# 持续偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠菌群多样性、挥发性脂肪酸和血清脑肠肽的影响

常双双[1，2] 马贵达[2] 张敏红[1*] 石玉祥[2] 冯京海[1]

（1.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所，动物营养学国家重点实验室，北京 100193；2.河北工程大学农学院，邯郸 056021）

摘 要：本试验旨在研究持续偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠菌群多样性、挥发性脂肪酸和血清脑肠肽的影响。试验采用单因素设计，选取 22 日龄健康、体重相近的爱拔益加肉鸡 144 只，随机分成 3 个组，每组 6 个重复，每个重复单笼饲养。将 3 个组的肉鸡转入环境温度为 21 ℃、相对湿度为 60%的环境控制舱适应 7 d。29 日龄时开始正式试验，单个鸡笼饲养面积为 0.64 $m^2$，饲养密度分别设置为每笼 6 只（公母各占 1/2，Ⅰ组）、每笼 8 只（公母各占 1/2，Ⅱ组）和每笼 10 只（公母占 1/2，Ⅲ组），环境温度为 31 ℃，相对湿度为 60%，试验条件维持至试验结束，共计 14 d。结果表明：1）偏热环境下Ⅱ组肉鸡盲肠菌群丰富度和多样性最高，且Ⅰ组和Ⅱ间组比Ⅰ组和Ⅲ组间盲肠菌群相似性低；2）偏热环境下Ⅱ组饲养密度有利于盲肠普通拟杆菌（*Bacteroides vulgatus*）的定植；3）偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠挥发性脂肪酸含量的影响无显著差异（$P>0.05$）；4）试验第 7 天，偏热环境下Ⅱ组肉鸡血清 5－羟色胺（5-HT）含量显著高于Ⅰ组（$P<0.05$），而偏热环境下饲养密度对肉鸡血清血管活性肽（VIP）和 P 物质（SP）含量的影响无显著差异（$P>0.05$）。综上，偏热环境下饲养密度可改变肉鸡盲肠菌群多样性与结构以及血清脑肠肽 5-HT 的含量，但不影响盲肠挥发性脂肪酸的含量。

关键词：偏热环境；饲养密度；菌群多样性；挥发性脂肪酸；血清脑肠肽；肉鸡[1]

中图分类号：S831.4

目前，关于高温环境对肉鸡影响的研究多集中在 32 ℃以上[1]，而实际生产中低于 32 ℃的偏热环境对肉鸡带来的影响也不容小觑，有研究表明偏热环境对肉鸡生理、行为、物质代谢、肠道菌群和生长性能等方面产生不利影响[2-4]。饲养密度同样是家禽养殖行业关注的焦点，它不仅直接影响肉鸡活动空间[5]，还间接影响鸡舍环境温度以及鸡只生长性能、行为、

---

收稿日期：2017－08－17

基金项目：国家“十三五”重点研发计划课题“肉禽舒适环境的适宜参数及限值研究”（2016YFD0500509)；动物营养学国家重点实验室自主研究课题“热环境影响肉鸡健康生长的分子机制”（2004DA125184G1609）

作者简介：常双双（1992—），女，河北沧州人，硕士研究生，养殖专业。E-mail: 2403486624@qq.com

*通信作者：张敏红，研究员，博士生导师，E-mail: zmh66@126.com

盲肠菌群及福利水平等[6-8]。研究表明短链脂肪酸（short chain fatty acid，SCFA）可降低肠道 pH，达到促进益生菌的生长增殖并抑制特定病原菌定植的目的[9-11]。另外有研究表明肠道菌群与脑肠肽的分泌是相互作用的[12]，如双歧杆菌四联活菌片可显著升高血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide，VIP)的水平，降低 P 物质（SP）的水平[13]。现已发现 5－羟色胺（5-hydroxytryptamine，5-HT）、VIP 和 SP 等脑肠肽与胃肠活动相关[14]。但是目前针对偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠菌群、挥发性脂肪酸以及血清脑肠肽的影响研究尚未见报道，因此本试验旨在研究偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠菌群、挥发性脂肪酸以及血清脑肠肽的影响，以期为肉鸡科学的饲养管理提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物与饲养管理

试验采用单因素设计，选取 22 日龄健康、体重相近爱拔益加（AA）肉鸡 144 只，随机分成 3 个组，每组 6 个重复，每个重复单笼饲养。将 3 个组的肉鸡转入环境温度为 21 ℃、相对湿度为 60%的环境控制舱适应 7 d。29 日龄时开始正式试验，单个鸡笼饲养面积为 0.64 $m^2$，饲养密度分别设置为每笼 6 只（公母各占 1/2，Ⅰ组）、每笼 8 只（公母占 1/2，Ⅱ组）和每笼 10 只（公母占 1/2，Ⅲ组），环境温度为 31 ℃，相对湿度为 60%，试验条件维持至试验结束，共计 14 d。试验在动物营养学国家重点实验室环境控制舱内进行，温度、相对湿度自动控制（精度分别为±1 ℃和±7%），无风，24 h 光照。

### 1.2 试验饲粮

采用玉米－豆粕型饲粮，所用饲粮为参照 NRC(1994)营养需要配制的粉状配合饲粮，基础饲粮组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲粮组成及营养水平(饲喂基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (as-fed basis) %

| 项目 Items | 含量 Content |
|---|---|
| 原料 Ingredients | |
| 玉米 Corn | 56.51 |
| 豆粕 Soybean meal | 35.52 |
| 豆油 Soybean oil | 4.50 |
| 食盐 NaCl | 0.30 |
| 石粉 Limestone | 1.00 |

| | |
|---|---|
| 磷酸氢钙 $CaHPO_4$ | 1.78 |
| *DL*－蛋氨酸 *DL*-Met | 0.11 |
| 预混料 Premix[1)] | 0.28 |
| 合计 Total | 100.00 |
| 营养水平 Nutrient levels[2)] | |
| 代谢能 ME/(MJ/kg) | 12.73 |
| 粗蛋白质 CP | 20.07 |
| 钙 Ca | 0.90 |
| 有效磷 AP | 0.40 |
| 赖氨酸 Lys | 1.00 |
| 蛋氨酸 Met | 0.42 |
| 蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys | 0.78 |

1)预混料为每千克饲粮提供 Premix provided the following per kg of the diet:VA 10 000 IU,$VD_3$ 3 400 IU，VE 16 IU，$VK_3$ 2.0 mg，$VB_1$ 2.0 mg，$VB_2$ 6.4 mg，$VB_6$ 2.0 mg，$VB_{12}$ 0.012 mg，泛酸钙 pantothenic acid calcium 10 mg，烟酸 nicotinic acid 26 mg，叶酸 folic acid 1 mg，生物素 biotin 0.1 mg，胆碱 choline 500 mg，Zn ($ZnSO_4·7H_2O$) 40 mg，Fe ($FeSO_4·7H_2O$) 80 mg,Cu ($CuSO_4·5H_2O$) 8 mg,Mn ($MnSO_4·H_2O$) 80 mg，I (KI) 0.35 mg，Se ($Na_2SeO_3$) 0.15 mg。

2)计算值 Calculated values。

### 1.3 饲养管理

试验肉鸡均采用单层平养，所选用笼具为本实验室研发的单层平养笼具[15]，自由采食与饮水，常规免疫。

### 1.4 测定指标及方法

#### 1.4.1 血液采集与指标测定

分别于试验第 7 天、第 14 天，每组随机选取 6 只肉鸡（公母各占 1/2，每个重复 1 只肉鸡），肉鸡采用静脉采血，静置 2 h 后，3 000 r/min 低温离心 10 min 吸取血清，至－80 ℃冰箱保存。

采用酶联免疫吸附测定（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）法测定血清中 5-HT、VIP 和 SP 的含量。

#### 1.4.2 盲肠内容物的采集与指标测定

1.4.2.1 盲肠内容物的采集

分别于试验第 7 天、第 14 天，每组随机选取 6 只肉鸡（公母各占 1/2，每个重复 1 只肉鸡）剪断颈静脉处死，全身消毒后剖开腹腔，分离肠道，结扎回盲交界处，剪下盲肠迅速移至超净工作台，用无菌剪刀剪开肠壁，收集盲肠内容物，将同一组的 6 个样品迅速混匀（用于挥发性脂肪酸测定的无需混匀），装置于无菌离心管中，液氮速冻，－80 ℃保存备用。

1.4.2.2 挥发性脂肪酸含量测定

称取 2 g 左右盲肠食糜置于离心管中，然后准确加入 5 mL 超纯水，旋涡振荡 3~5 min，5 000×*g* 离心 10 min；取上清液 1 mL 置于塑料安培管中，加入 0.2 mL 的 25%偏磷酸溶液，盖紧盖子，振荡摇匀，并置冰水浴中 30 min；10 000×*g* 离心 10 min，取上清液，上机测定盲肠内容物中乙酸、丙酸和丁酸的含量。

1.4.2.3 DNA 的提取

采用 Fast DNA$^{TM}$ SPIN Kit For Soil 提取样品基因组 DNA。

1.4.2.4 细菌 16S rDNA 片段的 PCR 扩增

以样品基因组 DNA 为模板，采用细菌通用引物 GC-338F 和 518R 扩增样品 16S rDNA 高变区序列，引物信息见表 2。

表 2 引物信息

Table 2 Primer information

| 引物 Primers | 序列 Sequences |
|---|---|
| 338F | CCTACG GGAGGC AGCAG |
| 518R | ATTACC GCG GCT GCT GG |
| GC-338F | CGCCCGGGGCGCGCCCCGGGGCGGGGCGGGGGCGCGGGGGGCCTACG GGAGGC AGCAG |

PCR 扩增体系（50 μL）为：10×PCR buffer 5 μL；dNTP Mixture（2.5 mmol/L）3.2 μL；ExTaq（5 U/μL）0.4 μL；GC-338F（20 μmol/L）1 μL；518R（20 μmol/L）1 μL；模板 DNA 50 ng；补 $ddH_2O$ 至 50 μL。PCR 扩增程序为：94 ℃预变性 5 min；94 ℃变性 1 min，55 ℃复性 45 s，72 ℃延伸 1 min，30 个循环；最终 72 ℃延伸 10 min。PCR 产物采用 OMEGA 公司 DNA Gel Extraction Kit 纯化回收。PCR 仪为 Biometra 公司生产的 T-gradient，凝胶成像仪为 Bio-Rad 公司的 Gel－Doc2000 凝胶成像系统。

1.4.2.5 PCR 产物的变性梯度凝胶电泳（DGGE）分析

取 10 µL PCR 的产物进行 DGGE 分析。采用变性梯度为 35%～55%、浓度为 7%的聚丙烯酰胺凝胶在 1×TAE 缓冲液中 150 V、60 ℃下电泳 5 h。DGGE 完毕后，采用银染法染色，步骤如下：1)固定液（乙醇 50 mL、冰醋酸 2.5 mL，定容至 500 mL）固定 15 min；2)Milli-Q 纯水清洗 20 s 和 2 min 各 1 次；3)银染液（硝酸银 1 g、37%甲醛 0.75 mL，定容至 500 mL）染色 15 min；4)Milli-Q 纯水清洗 20 s 和 2 min 各 1 次；5)显色液（氢氧化钠 7.5 g、37%甲醛 2.5 mL，定容至 500 mL）显色 5~7 min；6）最后用终止液（乙醇 50 mL、冰醋酸 2.5 mL，定容至 500 mL）终止反应。

1.4.2.6　DGGE 图谱中优势电泳条带的序列测定

DGGE 凝胶条带回收后，以 338F/518R 为引物进行 PCR 扩增，PCR 产物纯化后连接到 pMD18-T 载体上，转化至 DH5α感受态细胞中，筛选阳性克隆测序。测序结果与 GenBank 中的序列进行比对，得到条带所代表的细菌类型。每个回收条带选取 3 个克隆进行序列测定。

1.5　数据处理

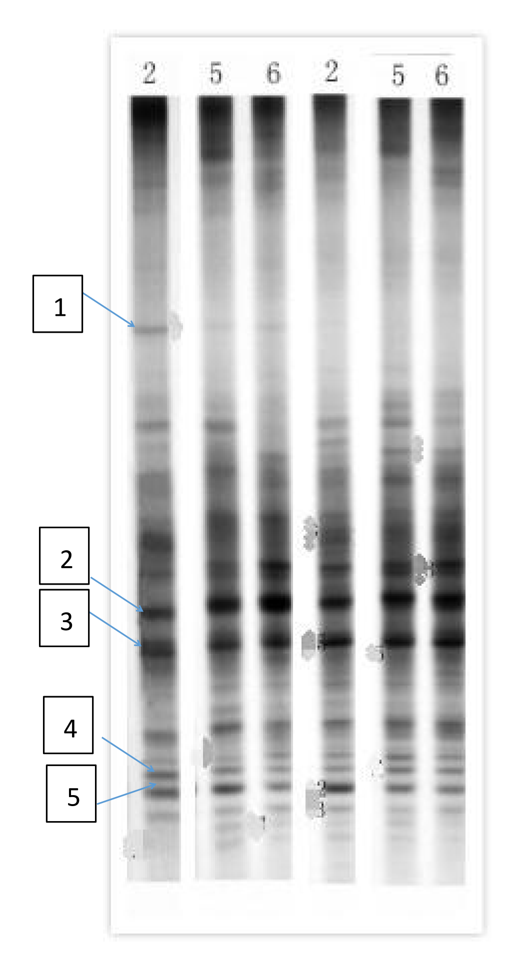
试验数据使用 SAS 9.2 统计分析软件进行单因素分析（one-way ANOVA），采用 Duncan 氏法进行多种比较，$P<0.05$ 为差异显著；采用软件 Quantity One 分析 DGGE 图谱多样性。

2　结果与分析

2.1　肉鸡盲肠菌群多样性

2.1.1　肉鸡盲肠菌群 PCR-DGGE 扩增指纹图谱分析

由图 1 和图 2 可知，试验第 7 天和第 14 天，偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠菌群条带数产生影响，且 II 组肉鸡盲肠菌群条带数高于 I 组和III组。由表 3 可知，偏热环境下不同饲养密度间肉鸡盲肠菌群相似性指数为 44.3%~61.0%，其中 I 组和 II 组间盲肠菌群相似性最低仅为 44.3%，II 组和III组间盲肠菌群结构相似性最高仅为 61%，这表明偏热环境下 II 组肉鸡盲肠菌群丰富度最高，此外 II 组与 I 组间比III组与 I 组间盲肠菌群相似性低，即 II 组与 I 组间比III组与 I 组间盲肠菌群结构差异大。




图谱左侧条带编号 2、5 和 6 分别为试验第 7 天Ⅱ组、Ⅲ组和Ⅰ组，图谱右侧条带编号 2、5 和 6 分别为试验第 14 天Ⅱ组、Ⅲ组和Ⅰ组。

The left band numbered 2, 5, 6 were groups Ⅱ, Ⅲ and Ⅰ on the 7th day of the experiment, and the right band numbered 2, 5, 6 were groups Ⅱ, Ⅲ and Ⅰ on the 14th day of the experiment, respectively.

图 1 肉鸡盲肠内容物菌群 DGGE 图谱



Fig.1 DGGE profiles of microflora in cecal contents of broilers

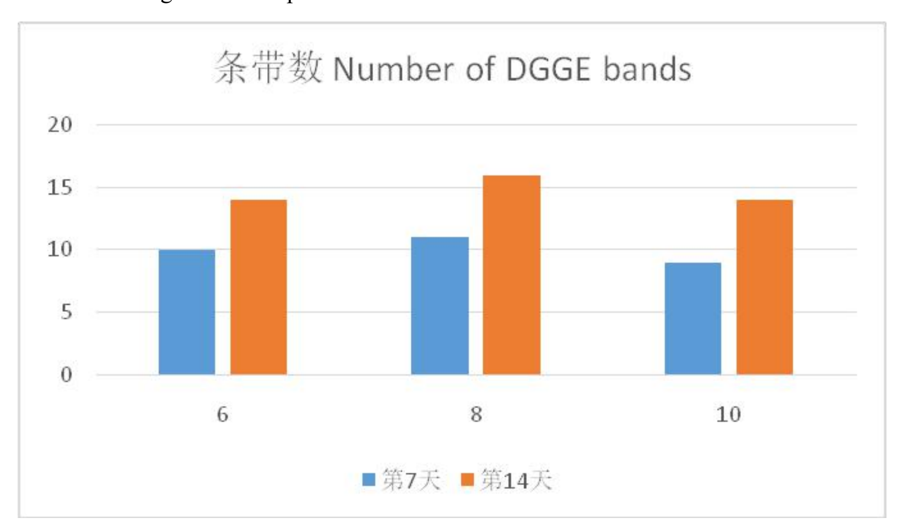



图 2 3 个组间盲肠菌群条带数比较

Fig.2 Comparison of cecal microflora band number in three groups

表 3 戴斯系数比较 PCR-DGGE 图谱的相似性

Table 3 Similarity of PCR-DGGE profiles compared by Deiss coefficient %

| 项目 Items | 第 7 天 The 7th day | | | 第 14 天 The 14th day | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ⅰ组 Group Ⅰ | Ⅱ组 Group Ⅱ | Ⅲ组 Group Ⅲ | Ⅰ组 Group Ⅰ | Ⅱ组 Group Ⅱ | Ⅲ组 Group Ⅲ |
| 第 7 天 The 7th day | | | | | | |
| Ⅰ组 Group Ⅰ | 100.0 | 53.7 | 59.5 | 43.1 | 58.5 | 59.1 |
| Ⅱ组 Group Ⅱ | 53.7 | 100.0 | 61.0 | 58.5 | 52.8 | 54.6 |
| Ⅲ组 Group Ⅲ | 59.5 | 61.0 | 100.0 | 59.1 | 54.6 | 43.1 |
| 第 14 天 The 14th day | | | | | | |
| Ⅰ组 Group Ⅰ | 43.1 | 58.5 | 59.1 | 100.0 | 44.3 | 45.3 |
| Ⅱ组 Group Ⅱ | 58.5 | 52.8 | 54.6 | 44.3 | 100.0 | 59.2 |
| Ⅲ组 Group Ⅲ | 59.1 | 54.6 | 43.1 | 45.3 | 59.2 | 100.0 |

### 2.1.2 肉鸡盲肠菌群结构多样性分析

由表 4 可知，偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠菌群结构多样性产生一定的影响。试验第 7 天，Ⅰ组肉鸡盲肠菌群香农指数和辛普森指数分别为 2.20 和 0.88，Ⅱ组分别为 2.36 和 0.90，Ⅲ组分别为 2.12 和 0.87。试验第 14 天，Ⅰ组肉鸡盲肠菌群香农指数和辛普森指数分别为 2.59 和 0.92， Ⅱ组分别为 2.70 和 0.93，Ⅲ组分别为 2.57 和 0.92。由此可见，偏热环境下Ⅱ组肉鸡盲肠菌群多样性高于其他 2 个组。

表 4 肉鸡盲肠菌群结构多样性分析

Table 4 Analysis of the diversity of cecal microbial structure of broilers

| 项目 Items | 香农指数 Shannon index | 均匀度 Evenness | 辛普森指数 Simpson index | 丰富度 Richness |
|---|---|---|---|---|
| 第 7 天 The 7th day | | | | |
| Ⅰ组 Group Ⅰ | 2.20 | 0.95 | 0.88 | 10 |
| Ⅱ组 Group Ⅱ | 2.36 | 0.98 | 0.90 | 11 |
| Ⅲ组 Group Ⅲ | 2.12 | 0.96 | 0.87 | 9 |
| 第 14 天 The 14th day | | | | |
| Ⅰ组 Group Ⅰ | 2.59 | 0.98 | 0.92 | 14 |
| Ⅱ组 Group Ⅱ | 2.70 | 0.97 | 0.93 | 16 |
| Ⅲ组 Group Ⅲ | 2.57 | 0.97 | 0.92 | 14 |

### 2.1.3 肉鸡盲肠特异性菌群和共性菌群分析

从肉鸡盲肠菌群 16S rDNA V3 区 PCR-DGGE 指纹图谱中分别割胶回收了 1 条特异性条

带和 4 条共性条带，由图 1 和表 5 可知，试验第 7 天和第 14 天 3 个组肉鸡盲肠内容物中均检测出共性条带 2 号菌条带(单形拟杆菌，*Bacteroides uniformis*)、3 号菌条带(*Eisenbergiella massiliensis*)、4 号菌条带(*Clostridium straminisolvens*)和 5 号菌条带（*Ruminococcus faecis*），仅 II 组肉鸡盲肠内容物中检测出 1 号菌条带（普通拟杆菌，*Bacteroides vulgatus*）。

在 5 个测序结果中，条带序列大部分分布于厚壁菌门（Firmicutes）和拟杆菌门（Bacteroidetes），与 GenBank 数据库中细菌的相似度均在 92%以上。

表 5 DGGE 图谱中条带的基因片段序列比对

Table 5 Comparison of genomic sequences of bands from DGGE profiles

| 条带编号 Band number | GenBank 数据库中最相近的菌种名称 The most similar bacteria name in the GenBank database | 登录号 Accession number | 相似度 Similarity/% |
|---|---|---|---|
| 1 | 普通拟杆菌 *Bacteroides vulgatus* | NR_074515.1 | 99 |
| 2 | 单形拟杆菌 *Bacteroides uniformis* | NR_112945.1 | 99 |
| 3 | *Eisenbergiella massiliensis* | NR_144731.1 | 100 |
| 4 | *Clostridium straminisolvens* | NR_024829.1 | 92 |
| 5 | *Ruminococcus faecis* | NR_116747.1 | 99 |

## 2.2 肉鸡盲肠挥发性脂肪酸含量

由表 6 可知，试验第 7 天和第 14 天，偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠挥发性脂肪酸（乙酸、丙酸和丁酸）含量的影响无显著差异（$P$>0.05）。

表 6 肉鸡盲肠挥发性脂肪酸含量

Table 6 The contents of volatile fatty acids in cecum of broilers mmol/L

| 项目 Items | 时间 Time | 组别 Groups | | | $P$ 值 $P$-value |
|---|---|---|---|---|---|
| | | I | II | III | |
| 乙酸 Acetic acid | 第 7 天 The 7th day | 2.09±0.21 | 2.21±0.26 | 2.20±0.31 | 0.966 1 |
| | 第 14 天 The 14th day | 1.52±0.66 | 1.54±0.53 | 1.94±0.53 | 0.387 2 |
| 丙酸 Propionic acid | 第 7 天 The 7th day | 0.39±0.19 | 0.29±0.15 | 0.47±0.17 | 0.253 9 |
| | 第 14 天 The 14th day | 0.30±0.08 | 0.32±0.11 | 0.43±0.19 | 0.269 1 |
| 丁酸 Butyric acid | 第 7 天 The 7th day | 1.04±0.46 | 0.91±0.58 | 0.98±0.60 | 0.907 7 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 第 14 天 The 14$^{th}$ day | 0.82±0.41 | 0.62±0.23 | 0.87±0.24 | 0.356 7 |

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著($P$>0.05)，不同字母表示差异显著($P$<0.05)。下表同。

In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P$>0.05), while with different letter superscripts mean significant difference ($P$<0.05). The same as below.

### 2.3 肉鸡血清脑肠肽含量

由表 7 可知，试验第 7 天，偏热环境下Ⅱ组肉鸡血清 5-HT 含量显著高于Ⅰ组（$P$<0.05），而偏热环境下饲养密度对肉鸡血清 VIP 和 SP 含量的影响无显著差异（$P$>0.05）；试验第 14 天，偏热环境下饲养密度对肉鸡血清 5-HT、VIP 和 SP 含量的影响无显著差异（$P$>0.05）。

表 7 肉鸡血清脑肠肽含量

Table 7 The contents of serum brain gut peptides of broilers pg/mL

| 项目 Items | 时间 Time | 组别 Groups Ⅰ | Ⅱ | Ⅲ | $P$ 值 $P$-value |
|---|---|---|---|---|---|
| 5-羟色胺 5-HT | 第 7 天 The 7$^{th}$ day | 111.68±31.71$^{b}$ | 213.42±29.71$^{a}$ | 206.52±22.42$^{a}$ | <0.000 1 |
| | 第 14 天 The 14$^{th}$ day | 189.08±33.58 | 155.12±32.84 | 177.81±33.65 | 0.232 0 |
| 血管活性肽 VIP | 第 7 天 The 7$^{th}$ day | 145.61±26.52 | 156.58±32.39 | 135.32±27.75 | 0.464 9 |
| | 第 14 天 The 14$^{th}$ day | 123.96±17.19 | 151.07±47.45 | 123.81±24.02 | 0.272 6 |
| P 物质 SP | 第 7 天 The 7$^{th}$ day | 6.51±1.61 | 6.92±0.83 | 6.28±1.98 | 0.769 4 |
| | 第 14 天 The 14$^{th}$ day | 7.29±1.00 | 7.93±1.18 | 6.62±0.88 | 0.122 3 |

## 3 讨 论

### 3.1 偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠菌群多样性的影响

肠道菌群是肉鸡体内环境中不可缺少的组成部分，在平衡状态时，对其宿主是有益无害的[16]。而家禽在生长发育过程中，环境应激可改变家禽肠道菌群结构[17]。研究报道，持续偏热环境（26 和 31 ℃）下肉鸡盲肠细菌条带数和菌群多样性下降[4]；在 3 周龄时饲养密度显著影响肉鸡消化道菌群变化，变化最显著的是嗉囊和盲肠菌群（相似性分析的 $R$ 值分别为 0.77 和 0.69，$P$≤0.05）；6 周龄时饲养密度对嗉囊和盲肠菌群的影响存在显著差异（相似性分析的 $R$ 值分别为 0.52 和 0.27，$P$≤0.05）[18]。本试验研究表明偏热环境下Ⅱ组肉鸡盲肠菌群丰富度和相似性高于其他 2 个组，进而说明偏热环境下 0.64 $m^2$ 8 只鸡的饲养密度有利于肉鸡盲肠菌群的生长。

研究表明，肉鸡盲肠内主要以厚壁菌门为主，其次为变形菌门、拟杆菌门和放线菌门

[19-20]。随着饲养密度增加，即饲养密度高于 450 $cm^2$/只时，笼养蛋鸡十二指肠中有益菌(*Lactobacillus gastricus* 和 *Lactobacillus alvi*)消失，并对肠道菌群平衡产生不利影响[21]。本试验研究发现，II 组肉鸡盲肠中检测出特异性菌群 *Bacteroides vulgatus*，而另外 2 个组并未发现。*Bacteroides vulgatus* 属于拟杆菌门，拟杆菌门是肠道革兰氏阴性菌中数量最大的一类细菌，产降解植物细胞壁的酶，参与植物细胞壁的降解，从而与肠道的消化功能有关[4]。

3.2　偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠挥发性脂肪酸含量的影响

SCFA 是肠道菌群的主要代谢产物，主要包括乙酸、丙酸和丁酸，是由纤维和抗性淀粉(指在小肠中难以被消化的淀粉及其降解产物)在肠道中经厌氧菌发酵产生[22]。SCFA 可降低肠道 pH 达到促进益生菌生长增殖并抑制特定病原菌定植的目的[9-11]。另有研究表明，肠道菌群以 SCFA 为介质作用于肠嗜铬细胞，影响肠道重要信息分子 5-HT 的合成和释放[23]。而本试验研究发现，偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠挥发性脂肪酸含量的影响无显著差异。

3.3　偏热环境下饲养密度对肉鸡血清脑肠肽含量的影响

脑肠肽可以直接作用于中枢神经系统，由血液所携带的脑肠肽是胃肠道向脑内传递的重要化学信号，这些信号物质可以通过脑干的最后区直接入脑而作用于脑干迷走复合体，进而影响迷走神经的传出功能，参与胃肠运动、食欲及摄食功能的调节[24]。

5-HT 又名血清素(serotonin)，是一种神经递质，也是重要的肠道生理调节器，主要由肠内分泌细胞产生，参与调解肠道运动和感觉，直接或间接刺激肠道分泌。研究报道，在生命早期缺乏菌群的时候，会导致血浆色氨酸水平的升高[25]。还有研究表明双歧杆菌则可以影响色氨酸的代谢，口服婴儿双歧杆菌可诱导大鼠神经递质多巴胺、5-HT 血浆浓度升高[26]。VIP 是一种非胆碱能非肾上腺素能抑制系统的神经递质，对胃肠活动起抑制性调节作用，引起全胃肠环形肌松弛[27]，还能改善肠黏膜组织微循环及内环境，为肠上皮细胞提供营养物质和氧，并清除过多的氧自由基等有害物质[28]，减少脂多糖对肠黏膜的损伤，促进有益菌的定植使菌群比例恢复正常[29]。SP 本身又是一种速激肽，可增加胃肠蠕动，强烈促消化道平滑肌收缩，加强结肠的集团推进运动，刺激小肠、结肠黏膜分泌水和电解质，使胃肠道的血管扩张，通透性增高，血浆外渗，并参与炎症过程和免疫反应[30]。

本试验研究发现，偏热环境下 II 组肉鸡血清 5-HT 含量显著高于 I 组，而偏热环境下饲养密度对肉鸡血清 VIP 和 SP 含量的影响无显著差异，这可能与肉鸡肠道菌群的变化相关，有待进一步试验探究。

综上所述，偏热环境下饲养密度可改变肉鸡盲肠菌群多样性与结构以及血清脑肠肽 5-HT 的含量，但不影响盲肠挥发性脂肪酸的含量，各检测指标间的确切关系有待进一步探

究。

4 结 论

① 偏热环境下Ⅱ组肉鸡盲肠菌群丰富度和相似性高于Ⅰ组和Ⅲ组，同时该组饲养密度有利于盲肠 *Bacteroides vulgatus* 的定植。

② 偏热环境下饲养密度对肉鸡盲肠挥发性脂肪酸含量的影响无显著差异。

③ Ⅱ组肉鸡血清 5-HT 含量显著高于Ⅰ组，但偏热环境下饲养密度对血清 VIP 和 SP 含量的影响无显著差异。

参考文献：


[1] DHABHAR F S,SAUL A N,DAUGHERTY C,et al.Short-term stress enhances cellular immunity and increases early resistance to squamous cell carcinoma[J].Brain,Behavior,and Immunity,2010,24(1):127–137.

[2] 胡春红,张敏红,冯京海,等.偏热刺激对肉鸡休息行为、生理及生产性能的影响[J].动物营养学报,2015,27(7):2070–2076.

[3] 苏红光,张敏红,冯京海,等.持续冷热环境对肉鸡生产性能、糖代谢和解偶联蛋白 mRNA 表达的影响[J].动物营养学报,2014,26(11):3276–3283.

[4] 彭骞骞,王雪敏,张敏红,等.持续偏热环境对肉鸡盲肠菌群多样性的影响[J].中国农业科学,2016,49(1):186–194.

[5] 白水莉.饲养密度和环境富集材料对肉鸡福利状况、生产性能和肉品质的影响[D].硕士学位论文.扬州:扬州大学,2009.

[6] TÜRKYILMAZ M K.The effect of stocking density on stress reaction in broiler chickens during summer[J].Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences,2008,32(1):31–36.

[7] BUIJS S,KEELING L,RETTENBACHER S,et al.Stocking density effects on broiler welfare:identifying sensitive ranges for different indicators[J].Poultry Science,2009,88(8):1536–1543.

[8] 赵乾宇.饲养密度对笼养蛋鸡小肠组织结构和盲肠细菌种群的影响[D].硕士学位论文.大庆:黑龙江八一农垦大学,2015.

[9] ESWARAN S,MUIR J,CHEY W D.Fiber and functional gastrointestinal disorders[J].The American Journal of Gastroenterology,2013,108(5):718–727.

[10] SILK D B A,DAVIS A,VULEVIC J,et al.Clinical trial:the effects of a trans-galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel

syndrome[J].Alimentary Pharmacology & Therapeutics,2009,29(5):508–518.

[11] FUKUDA S,TOH H,HASE K,et al.Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate[J].Nature,2011,469(7331):543–547.

[12] 白宇,胡云霞,陈俊伟,等.细菌-脑-肠轴理论体系的建立[J].东南大学学报(医学版),2016 35(5):781–785.

[13] 傅丽霞.双歧杆菌四联活菌片治疗腹泻型肠易激综合征患者的疗效及对血清脑肠肽水平的影响[J].中国微生态学杂志,2017,29(2):179–181.

[14] 陈倩.隔药灸脐法对脾气虚型肠易激综合征患者血清脑肠肽影响的临床研究[D].硕士学位论文.济南:山东中医药大学,2004.

[15] 张敏红,苏红光,冯京海,等.采集用于建立肉鸡生活环境舒适性评价模型数据的方法和专用装置:中国,CN103404447A[P].2015－11－18.

[16] 马治宇.乳酸菌及其培养液对肉鸡生产性能、肠道菌群及肠道结构的影响[D].硕士学位论文.杨凌:西北农林科技大学,2008.

[17] BURKHOLDER K M,THOMPSON K L,EINSTEIN M E,et al.Influence of stressors on normal intestinal microbiota,intestinal morphology,and susceptibility to *Salmonella enteritidis* colonization in broilers[J].Poultry Science,2008,87(9):1734–1741.

[18] GUARDIA S,KONSAK B,COMBES S,et al.Effects of stocking density on the growth performance and digestive microbiota of broiler chickens[J].Poultry Science,2011,90(9):1878–1889.

[19] GONG J H,SI W D,FORSTER R J,et al.16S rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts:from crops to ceca[J].FEMS Microbiology Ecology,2006,59(1):147–157.

[20] 王丽凤.益生菌 *L. plantarum* P-8 对肉鸡肠道菌群、肠道免疫和生长性能影响的研究[D].博士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,2014.

[21] 于江明,王秋菊,刘勃麟,等.不同饲养密度对笼养蛋鸡十二指肠肠道菌群的影响[J].动物营养学报,2016,28(3):899–907.

[22] 徐万里,陆高,梁世杰,等.短链脂肪酸介导的菌群－宿主互动与肠易激综合征的研究进展[J].世界华人消化杂志,2015,23(36):5815–5822.

[23] YANO J M,YU K,DONALDSON G P,et al.Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis[J].Cell,2015,161(2):264–276.

[24] WANG L J,ZHOU L,TIAN R.Role of the area postrema of medullaoblongata in the regulation of canine interdigesting migrating motorcomple[J].Chinese Medical Journal,2002,115(3):384–388.

[25] DESBONNET L,GARRETT L,CLARKE G,et al.The probiotic *Bifidobacteria infantis*:an assessment of potential antidepressant properties in the rat[J].Journal of Psychiatric Research,2008,43(2):164–174.

[26] DESBONNET L,GARRETT L,CLARKE G,et al.Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression[J].Neuroscience,2010,170(4):1179–1188.

[27] 崔莉红.胃肠激素对结肠运动的调节作用[J].医学综述,2008,14(3):380–382.

[28] 吴美玉,胡团敏.血管活性肠肽与消化系疾病的研究进展[J].世界华人消化杂志,2012,20(16):1453–1457.

[29] CAMPOS-SALINAS J,CAVAZZUTI A,O'VALLE F,et al.Therapeutic efficacy of stable analogues of vasoactive intestinal peptide against pathogens[J].Journal of Biological Chemistry,2014,289(21):14583–14599.

[30] 陈晓敏,张燕华,吴跃龙.肠易激综合征结肠黏膜 P 物质和血管活性肠肽变化的研究[J].实用临床医药杂志,2008,12(11):31–33.

Effects of Stocking Density on Diversity of Cecal Microflora, Cecal Volatile Fatty Acids and Serum Brain Gut Peptides of Broilers under Moderate Ambient Temperatures

CHANG Shuangshuang[1,2] MA Guida[2] ZHANG Minhong[1*] SHI Yuxiang[2] FENG Jinghai[1]

（1. *State Key Laboratory of Animal Nutrition*, *Institute of Animal Science*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100193, *China*; 2. *College of Agriculture, Hebei University of Engineering, Handan* 056021, *China*）

Abstract: The study was conducted to investigate the effects of stocking density on diversity of cecal microflora, cecal volatile fatty acids and serum brain gut peptides of broilers under moderate ambient temperatures. A total of one hundred and forty-four 22-day-old healthy Arbor Acres broilers with similar body weight were randomly divided into three groups, each group contained six cages and each cage as a replicate. The pre-test period lasted for 7 days and broilers were kept at 21 ℃ temperature and 60% relative humidity. When broilers were 29-day-old, with the area of single chicken cage was 0.64 $m^2$, the stocking density was 6 birds each cage (half male and half female, group Ⅰ), 8 birds each cage (half male and half female, group Ⅱ) and 10 birds each

cage (half male and half female, group Ⅲ) respectively under 31 ℃ temperature and 60% relative humidity, and the trial lasted for 14 days. The results showed as follows: 1) the richness and diversity of cecal microflora of broilers were the highest in group Ⅱ under the moderate temperature, and the similarity of cecal microflora between group Ⅰ and group Ⅱ was lower than that between group Ⅰ and group Ⅲ. 2) The stocking density in group Ⅱ was beneficial to the growth of cecal *Bacteroides vulgatus* of broilers under the moderate temperature. 3) The influence of stocking density on the volatile fatty acid contents in the cecum of broilers was not significantly different under the moderate temperature ($P$>0.05). 4) At the 7$^{th}$ day of the experiment, the serum 5-hydroxytryptamine (5-HT) of broilers in group Ⅱ was significantly higher than that in group Ⅰ under the moderate temperature ($P$<0.05). However the influence of stocking density on serum contents of vasoactive intestinal peptide (VIP) and substance P (SP) of broilers were not significantly different under the moderate temperature ($P$>0.05). In conclusion, the stocking density can change the diversity and structure of cecal microflora as well as serum 5-HT content, but does not affect the contents of volatile fatty acids in the cecum of broilers.

Key words: moderate temperature; stocking density; microflora diversity; volatile fatty acid; brain gut peptide; broiler[i]

---

*Corresponding author, professor, E-mail: zmh66@126.com (责任编辑　田艳明)